



УДК 597-113.32:[556.51.32:546.3]

СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ИОНОВ МЕТАЛЛОВ НА УРОВЕНЬ АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА БЕЛУГИ, СТЕРЛЯДИ И ИХ ГИБРИДА

© 2010 Д.А. Бедняков

Астраханского государственного технического университета.

В работе показано совместное влияние ионов двухвалентных металлов (Mn, Fe, Co, Ni, Cu и Zn) и температуры на уровень активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки белуги, стерляди и их гибрида. Показана зависимость ответной реакции фермента на действие ионов металлов в соответствии с их положением в периодической таблице химических элементов. Данная зависимость сохраняется и при изменении температуры инкубации, только при низких температурах максимален активирующий эффект металлов находящихся в начале периода, а при высоких, максимален ингибирующий эффект металлов находящихся в конце периода.

Ключевые слова: щелочная фосфатаза, белуга, стерлядь, бестер, ионы металлов, температура.

In work joint influence of ions of bivalent metals (Mn, Fe, Co, Ni, Cu and Zn) and temperatures on level of activity alkaline phosphatase mucous membrane beluga, starlet and their hybrid is shown. Dependence of response of enzyme on action of ions of metals according to their position in a periodic table of chemical elements is shown. The given dependence remains and at temperature change incubation, only at low temperatures the activating effect of metals being in the period beginning is maximum, and at high, is maximum inhibiting effect of metals being in the period end.

Ключевые слова: щелочная фосфатаза, белуга, стерлядь, бестер, ионы металлов, температура.

Keywords: alkaline phosphatase, beluga, starlet, bester, ions of metals, temperature.

Температура является одним из основных абиотических факторов среды, определяющих основные параметры жизнедеятельности рыб. Изучение температурной толерантности рыб становится все более актуальным в связи с проблемой антропогенного термического загрязнения водной среды, особенно в зонах сброса подогретых вод промышленных предприятий. Кроме того данные воды как правило кроме теплового загрязнения содержат и химическое – ионы тяжелых металлов. Данные ионы аккумулируются гидробионтами и включаются в пищевые сети [1] и могут оказывать воздействие на пищеварительные ферменты, функционирующие в полости желудочно-кишечного тракта и на структурах щеточной каймы энтероцитов.

В связи с этим целью данной работы являлось исследование *in vitro* совместного влияния температуры и ионов шести металлов четвертого периода периодической системы химических элементов (Mn, Fe (II), Co, Ni, Cu и Zn) на уровень активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника белуги, севрюги и их гибрида – бестера.

В работе были исследованы годовики белуги (*Huso huso L.*), стерляди (*Acipenser ruthenus L.*) и их гибрида бестера (*Huso huso L. × Acipenser ruthenus L.*), выращенные в искусственных условиях. Пойманных рыб в течение 1-2 ч доставляли в лабораторию, где у них на холоде изымали желудочно-кишечный тракт и специальным скребком снимали слизистую оболочку кишечника. Гомогенаты готовили при помощи гомогенизатора, добавляя охлажденный до 2–4 °С раствор Рингера для холоднокровных животных в соотношении 1:49. Уровень активности щелочной фосфатазы (КФ 3.1.3.1) определяли по степени гидролиза п-нитрофенилфосфата [2].

В качестве источников ионов металлов использовали соответствующие сернокислые соли (MnSO₄, FeSO₄, CoSO₄, NiSO₄, CuSO₄, ZnSO₄). Растворы этих солей добавляли в ферментативно активный препарат и субстрат в количестве, необходимом для создания в этих средах концентрации соответствующего иона в 10 мг/л. Инкубацию производили при температурах – 0, 25 и 40 °С.



Данные полученные при исследовании совместного влияния температуры и ионов металлов в концентрации 10 мг/л на уровень активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника исследованных видов рыб представлены в таблице.

Как видно из таблицы, ионы металлов оказывают разнонаправленное влияние на уровень активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника исследованных видов рыб. При этом уровень активности фермента зависит не только от того, какой металл находится в инкубационной среде, но и от температуры инкубации. Так, например Mn^{2+} при температуре инкубации 0 °С повышает уровень активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника белуги на 76%, стерляди на 114% и бестера на 33%, при температуре инкубации 25 °С на 28, 43 и 11% соответственно и при температуре 40°С на 14, 29 и 8% у белуги, стерляди и бестера соответственно. Для ионов железа и кобальта прослеживается та же тенденция, однако уровень активации щелочной фосфатазы заметно ниже. Присутствие ионов никеля в инкубационной среде приводило, как правило, к незначительному ингибированию уровня активности щелочной фосфатазы. Ионы меди во всех случаях вызвали достоверное ингибирование уровня активности щелочной фосфатазы, причем следует отметить тот факт, что при увеличении температуры инкубации, ингибирующее действие меди усиливалось. Так, например, при температуре инкубации 0 °С установлено 11% ингибирование уровня активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника стерляди, повышение температуры инкубации до 25 и 40 °С увеличивало ингибирование уровня активности данного фермента до 25 и 19% соответственно.

Как видно из представленных данных ионы металлов могут значительно изменять уровень активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника рыб и их гибридов, при этом на степень воздействия иона металла оказывает существенное влияние температура. Возможный механизм взаимодействия металла с молекулой фермента, вероятно, заключается в связывании иона металла со специальной контактной площадкой, и с замещением металлокомпонента на металл, близкий по атомному строению [3]. Изменение температуры в свою очередь влияет на скорость движения молекул и следовательно на скорость замещения металлокомпонента в молекуле фермента.

Еще А.В. Войнаром [4] была отмечена зависимость ответной реакции ферментов на действие ионов металлов в соответствии с их положением в периодической таблице химических элементов Д.И. Менделеева. В дальнейшем эта зависимость была продемонстрирована нами для ферментов слизистой оболочки кишечника костистых рыб [5, 6]. В наших экспериментах была продемонстрирована зависимость ответной реакции щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника осетровых видов рыб и их гибрида от положения металла в таблице химических элементов Д.И. Менделеева. В частности установлено, что в ряду металлов IV периода вспомогательных групп Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} и Zn^{2+} максимальное влияние оказывают металлы, находящиеся в начале и конце ряда. При этом перечисленные металлы, находящиеся в начале периода, оказывают стимулирующее действие на уровень активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника, а в конце – угнетающее. Данная зависимость сохраняется и при изменении температуры инкубации, стоит только отметить, что при низких температурах максимален активирующий эффект металлов находящихся в начале периода, а при высоких, максимален ингибирующий эффект металлов находящихся в конце периода.

Приведенные результаты демонстрируют регуляторную функцию ионов металлов, выступающих в качестве модификатора щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника осетровых видов рыб и их гибрида. Из приведённых данных видно, что щелочная фосфатаза гибрида белуги и стерляди в меньшей степени подвержена воздействию ионов металлов, по сравнению с родительскими формами.



Таблица

Совместное влияние температуры и ионов металлов на уровень активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника рыб (мкмоль/(г×мин))

Т °С	Контроль	Ион металла					
		Mn	Fe (II)	Co	Ni	Cu	Zn
Белуга							
0°	0,34±0,01	0,60±0,01	0,62±0,01	0,50±0,01	0,32±0,01	0,28±0,01	0,35±0,01
25°	0,69±0,01	0,84±0,01	0,94±0,01	0,84±0,01	0,62±0,01	0,53±0,01	0,67±0,01
40°	1,42±0,01	1,62±0,01	1,68±0,01	1,75±0,01	1,36±0,01	1,12±0,01	1,36±0,01
Стерлядь							
0°	0,28±0,01	0,60±0,01	0,47±0,01	0,39±0,01	0,29±0,01	0,25±0,01	0,31±0,01
25°	0,53±0,01	0,76±0,01	0,71±0,01	0,61±0,01	0,52±0,01	0,40±0,01	0,50±0,01
40°	1,01±0,01	1,30±0,01	1,25±0,01	1,18±0,01	1,09±0,01	0,82±0,01	1,08±0,01
Бестер							
0°	0,54±0,01	0,72±0,01	0,81±0,01	0,70±0,01	0,49±0,01	0,43±0,01	0,54±0,01
25°	0,96±0,01	1,07±0,01	1,13±0,01	1,02±0,01	0,83±0,01	0,79±0,01	0,95±0,01
40°	1,71±0,01	1,85±0,01	1,92±0,01	1,95±0,01	1,63±0,01	1,40±0,01	1,68±0,01

Библиографический список

1. Соболев К.Д. Загрязнение тяжелыми металлами естественных и искусственных кормов и его влияние на рыб в условиях сбросных теплых вод. Автореф. дис. канд. биол. наук - СПб. 2004. -24с.
2. Неваленный, А.Н., Бедняков, Д.А., Дзержинская, И.С. Энзимология: Учеб. пособие. – Астрахань: ФГОУ ВПО «Астрахан. гос. техн. ун-т», 2005. –83с.
3. Калоус В., Павличек З. Биофизическая химия. - М.: Мир, 1985. – 384с.
4. Войнар И.А. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. – М.: Высшая школа, 1960. -480с.
5. Неваленный, А.Н., Туктаров, А.В., Бедняков, Д.А. Функциональная организация и адаптивная регуляция процессов пищеварения у рыб.– Астрахань: ФГОУ ВПО «Астрахан. гос. техн. ун-т», 2003. –152 с.
6. Бедняков Д.А. Модификационное регулирование уровня активности некоторых пищеварительных ферментов у рыб. Автореф. дис. канд. биол. наук - Астрахань 2004. -24с.